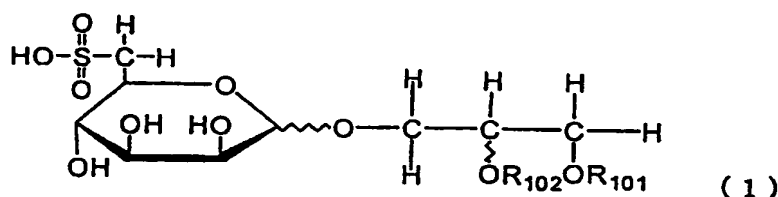




(51) 国際特許分類7 C07H 15/04, A61K 31/7032, A61P 35/00, 43/00	A1	(11) 国際公開番号 WO00/52020 (43) 国際公開日 2000年9月8日(08.09.00)
(21) 国際出願番号 PCT/JP00/00972 (22) 国際出願日 2000年2月21日(21.02.00) (30) 優先権データ 特願平11/51396 1999年2月26日(26.02.99) (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 東洋水産株式会社(TOYO SUISAN KAISHA, LTD.)(JP/JP) 〒108-8501 東京都港区港南2丁目13番40号 Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 山崎隆之(YAMAZAKI, Takayuki)(JP/JP) 〒278-0022 千葉県野田市山崎2712-56 邦和荘106号室 Chiba, (JP) 菅原二三男(SUGAWARA, Fumio)(JP/JP) 〒352-0012 埼玉県新座市畑中1-11-3-213 Saitama, (JP) 太田慶祐(OHTA, Keisuke)(JP/JP) 〒278-0022 千葉県野田市山崎2701-1 Chiba, (JP) チサンマンション野田410号 Chiba, (JP) 正木和好(MASAKI, Kazuyoshi)(JP/JP) 〒350-0203 埼玉県坂戸市横沼345-1 Saitama, (JP)		(74) 代理人 中山小太郎(NAKAYAMA, Kotaro)(JP/JP) 〒284-0025 千葉県四街道市さちが丘2-16-4 Chiba, (JP) 坂口謙吾(SAKAGUCHI, Kengo)(JP/JP) 〒300-2667 茨城県つくば市中別府590-142 Ibaraki, (JP) 鈴江武彦, 外(SUZUYE, Takehiko et al.) 〒100-0013 東京都千代田区霞が関3丁目7番2号 鈴榮内外國特許法律事務所内 Tokyo, (JP) (81) 指定国 AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM) 添付公開書類 国際調査報告書

(54)Title: NOVEL SULFORHAMNOSYLACYLGLYCEROL DERIVATIVES AND UTILIZATION THEREOF AS DRUGS

(54)発明の名称 新規なスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体およびその医薬としての用途

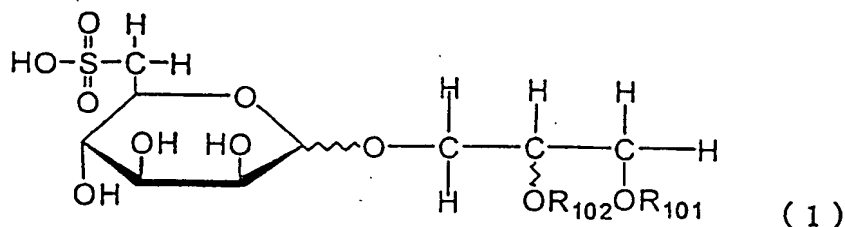


(57) Abstract

Novel sulforhamnosylacylglycerol derivatives represented by general formula (1): wherein R_{101} represents an acyl residue of a higher fatty acid; and R_{102} represents hydrogen or an acyl residue of a higher fatty acid. These derivatives (1) are useful as DNA synthase inhibitors and carcinostatic agents.

(57)要約

次の一般式 (1) :



(式中、R₁₀₁は、高級脂肪酸のアシル残基を表し、R₁₀₂は、水素原子又は高級脂肪酸のアシル残基を表す。)により表される新規なスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体。一般式(1)で表される誘導体は、DNA合成酵素阻害剤、制癌剤として有用である。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AG	アンティグア・バーブーダ	DZ	アルジェリア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AL	アルバニア	EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	LS	レソト	SK	スロヴァキア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BE	ベルギー	GE	グルジア	MA	モロッコ	TD	チャード
BG	ブルガリア	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BF	ブルキナ・ファソ	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BJ	ベナン	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BR	ブラジル	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BY	ベラルーシ	GW	ギニア・ビサオ			TT	トリニダード・トバゴ
CA	カナダ	HR	クロアチア	ML	マリ	TZ	タンザニア
CF	中央アフリカ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MR	モリタニア	UG	ウガンダ
CH	スイス	IE	アイルランド	MW	マラウイ	US	米国
CI	コートジボアール	IL	イスラエル	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CM	カメルーン	IN	インド	MZ	モザンビーク	VN	ヴェトナム
CN	中国	IS	アイスランド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラヴィア
CR	コスタ・リカ	IT	イタリア	NL	オランダ	ZA	南アフリカ共和国
CY	キプロス	JP	日本	NO	ノルウェー	ZW	ジンバブエ
CZ	チェッコ	KE	ケニア	NZ	ニュージーランド		
DE	ドイツ	KG	キルギスタン	PL	ポーランド		
DK	デンマーク	KP	北朝鮮	PT	ポルトガル		
		KR	韓国	RO	ルーマニア		

明 細 書

新規なスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体
およびその医薬としての用途

技術分野

本発明は、新規なスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体に関する。本発明の新規なスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体は、医薬、具体的には、DNA合成酵素阻害剤および制癌剤として有用である。

背景技術

藻類、高等植物等の天然物に含まれる含硫糖脂質には、生理活性を有するものがあることが知られている。

例えば、太田らの文献(Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 46(4), (1998))には、紅藻スギノリから得られる特定のスルホキノボシルアシルグリセロール誘導体が、高等生物DNA合成酵素 α および β の阻害活性並びにHIV由来逆転写酵素阻害活性を示すことが記載されている。

また、水品らの文献(Biochemical Pharmacology, 55, 537-541, (1998))には、シダ植物から得られる特定のスルホキノボシルアシルグリセロール誘導体が、子ウシDNA合成酵素 α 型およびラットDNA合成酵素 β 型への阻害活性を示すが、HIV由来逆転写酵素活性には影響を及ぼさないことが記載されている。

一方、佐原らの文献(British Journal of Cancer, 75(3), 324-332, (1997))には、ウニ体内成分から得られるスルホキノボシルモノアシルグリセロール画分が、

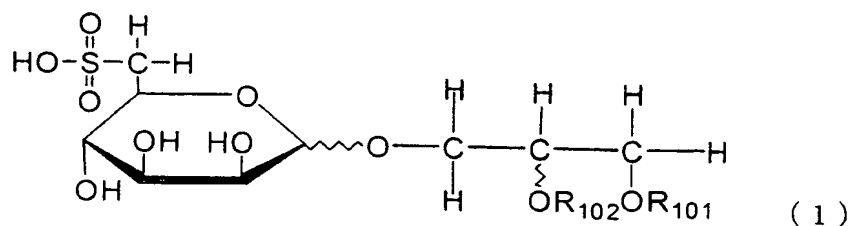
また、本発明は、一般式（１）により表される化合物およびその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも１種を有効成分として含有する医薬も提供する。

発明を実施するための最良の形態

本明細書において、保護基の「炭素数」とは、当該保護基を非置換としてみなした場合の炭素原子の数をいう。従って、例えば、 R_1 により表される基が置換アルキル基である場合、その炭素数とは、当該アルキル基に置換する置換基の炭素原子を含まない、アルキル基の骨格部分の炭素原子の数をいう。保護基がアルキル基以外の場合についても同様である。

まず、本発明の一般式（１）で表されるスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体（以下、「本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体」ともいう）について詳細に説明する。

本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体は、次の一般式（１）：



（式中、 R_{101} は、高級脂肪酸のアシル残基を表し、 R_{102} は、水素原子又は高級脂肪酸のアシル残基を表す。）により表されるものである。

上記一般式（１）において、 R_{101} は、高級脂肪酸のアシ

ル残基を表す。R₁₀₁により表される高級脂肪酸のアシル残基を提供する脂肪酸には、直鎖状又は分岐状の、飽和又は不飽和高級脂肪酸が含まれる。

本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体を医薬として用いる場合、R₁₀₁は、特に、胃癌および大腸癌等の固形癌に対する制癌活性の観点から直鎖状飽和高级脂肪酸のアシル残基が好ましく、 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$ (nは、12~24の整数 (好ましくは、12~24の偶数) である。) により表される基が更に好ましい。本発明者らは、本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体において、R₁₀₁により表される基： $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CO}-$ のnの値が24を越えた場合にも制癌活性があることを予測している。しかしながら、そのような長鎖のアシル残基を有するスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体は、製造コスト等の観点から実用的でない。

上記一般式(1)において、R₁₀₂は、水素原子又は高級脂肪酸のアシル残基を表す。高級脂肪酸のアシル残基を提供する脂肪酸には直鎖状又は分岐状の、飽和又は不飽和高級脂肪酸が含まれ、具体的には、R₁₀₁において述べたものが含まれる。

本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体を医薬として用いる場合、R₁₀₂は、特に、胃癌および大腸癌等の固形癌に対する制癌活性の観点から水素原子であることが好ましい。

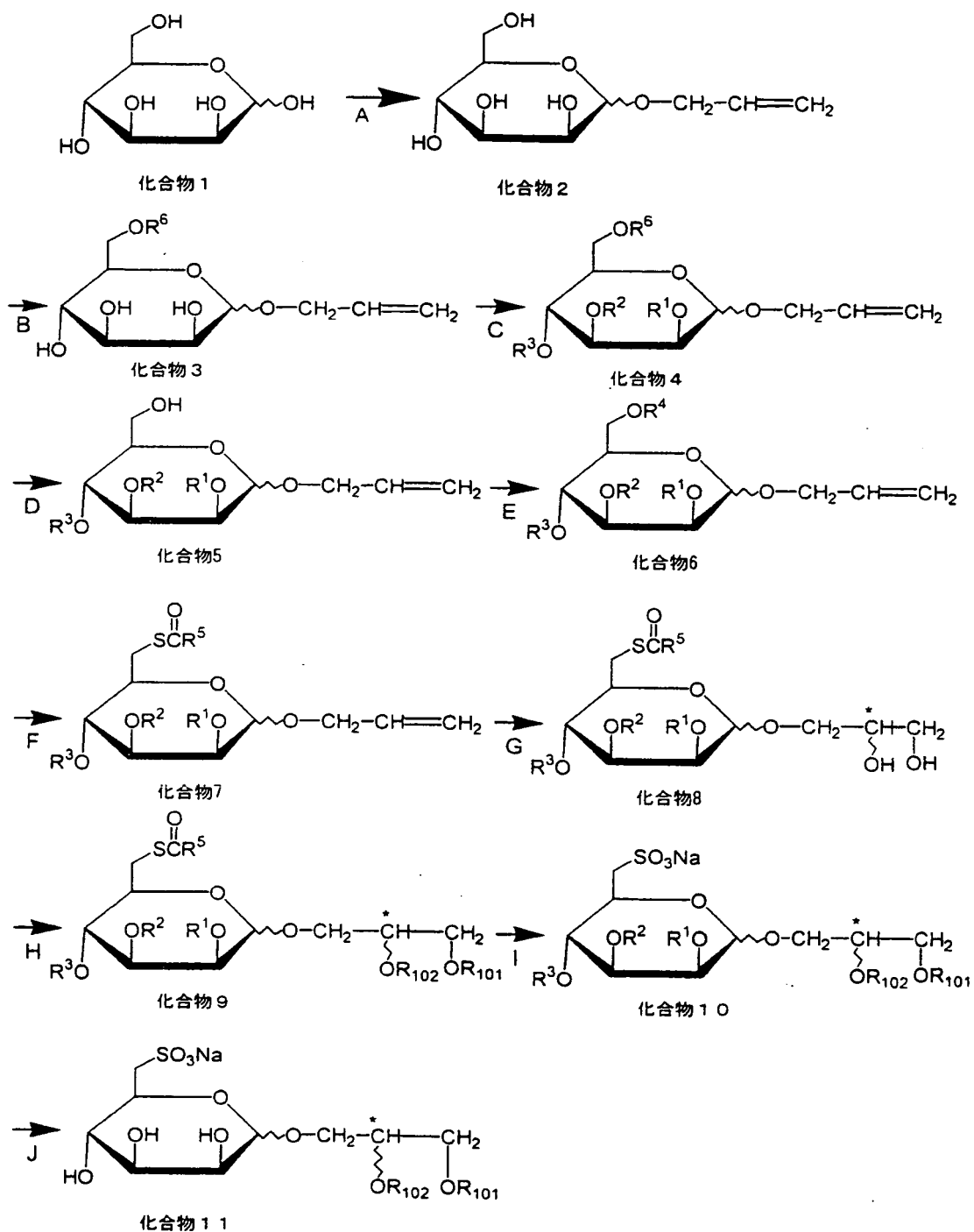
上記一般式(1)において、スルホラムノシドの糖骨格

は、舟形、いす型のいずれの配置をもとり得る。しかしながら、いす型のもののほうが、安定性の観点から好ましい。また、スルホラムノースとグリセロールとの結合は、 α 結合であっても β 結合であってもよい。しかしながら、本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体を医薬として用いる場合、特に、製造の容易性の観点から、 α 結合であることが好ましい。また、グリセロール部分の2位の炭素（不斉炭素）における絶対配置は、S又はRの何れであってもよい。

本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体の製造方法を以下に説明する。

本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体は、次のスキーム1に示す反応式に従い、（工程A）～（工程J）を経て製造することができる。

スキーム 1



(工程 A) D-マンノースの C 1 炭素に結合する水酸基を 2-プロペニル化する。(工程 B) マンノースの C 6 炭素の

水酸基を保護する。(工程 C) マンノースの C 2、C 3 および C 4 炭素に結合する水酸基を保護する。(工程 D) 先に保護した C 6 炭素の保護基を脱保護する。(工程 E) C 6 炭素に結合する水酸基をカルボニルチオ基に変換し得る基(例えば、アルキルスルホニルオキシ基又はアリールスルホニルオキシ基)に置換する。(工程 F) C 6 炭素をカルボニルチオ化する。(工程 G) C 1 炭素に結合する 2-プロペニル基をジオール化する。(工程 H) 得られたジオールの両方又は 1 位の水酸基のみを所望の高級脂肪酸によりエステル化する。

(工程 I) C 6 炭素のカルボニルチオ基をスルホン酸塩化する。(工程 J) 得られたスルホン酸塩の C 2、C 3 および C 4 炭素の保護基を脱保護することにより、塩の形態にある、本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体を製造することができる。このようにして得られた塩は、塩酸等の酸による滴定に供することにより、本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体にするすることができる。

上記工程 A ~ J をさらに詳細に説明する。

工程 A の 2-プロペニル化は、マンノースとアリルアルコールをトリフルオロメタンスルホン酸等の強酸の存在下に、通常、室温 ~ 100℃、好ましくは 80℃ ~ 90℃ の温度で、通常、半日 ~ 2 日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程 B においては、C 6 炭素に結合する水酸基を保護し、C 6 炭素に $-OR^6$ を結合させる(ここで、 R^6 は、アルキル基又は置換シリル基を表す。)。

水酸基を保護し得る化合物としては、 R^6 により表される基がアルキル基又は置換シリル基になるような化合物を用いることができる。

R^6 により表されるアルキル基には、好ましくはかさ高い、置換のアルキル基が含まれる。置換基にはメチル基、フェニル基等が含まれる。置換アルキル基の具体例としては、*t*-ブチル基、トリチル基等を挙げることができる。

R^6 により表される基が置換シリル基である場合、置換シリル基の置換基には、低級アルキル基、好ましくは炭素数1～4のアルキル基（例えば、メチル基、エチル基、イソプロピル基、*t*-ブチル基）、およびアリール基、好ましくは炭素数6のアリール基（例えば、フェニル基）等が含まれる。 R^6 により表される置換シリル基は、好ましくは3置換のシリル基であり、より好ましくは*t*-ブチルジフェニルシリル基等が含まれる。

工程Bにおける水酸基の保護は、 R^6 がアルキル基である化合物3を得る場合、乾燥ピリジン等の有機溶媒に溶解した化合物2の溶液に、 R^6-X で表される化合物（式中、 R^6 は上で規定したアルキル基、 X は塩素原子等のハロゲン原子。）を添加し、*p*-ジメチルアミノピリジン（DMAPI）等の触媒の存在下に室温で反応させることにより行うことができる。化合物 R^6-X としては、トリチルクロリドが、製造コスト、反応の容易性の観点から好ましく用いられる。

R^6 が置換シリル基である化合物3を得る場合、化合物 R^6-X として*t*-ブチルジフェニルシリルクロリド等を用

い、イミダゾール等の触媒の存在下、室温で、通常、半日～2日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程Cにおいては、C2、C3およびC4炭素に結合する水酸基を保護し、それぞれ $-OR^1$ 、 $-OR^2$ および $-OR^3$ （ここで、 $R^1 \sim R^3$ は、互いに独立して、アルキル基又は置換シリル基を表わす。）にする。これらの水酸基の保護は、N,N-ジメチルホルムアミド（DMF）等の有機溶媒に溶解した化合物3の、C2、C3およびC4炭素に結合する水酸基を水素化ナトリウム等により活性化し、水酸基を保護し得る化合物を室温で反応させることにより行うことができる。

水酸基を保護し得る化合物としては、ベンジルブロミド、p-メトキシベンジルブロミド、t-ブチルジメチルシリルクロリド、トリエチルシリルクロリド等を用いることができる。ベンジルブロミドは、特に、R101、R102により表されるアシル残基が飽和のものである場合において保護基の安定性の観点から好ましく用いることができる。これらの水酸基を保護し得る化合物を用いる場合の反応は、それぞれの保護基に適した反応条件により行うことができる。

工程DにおけるC6炭素に結合する保護基の脱保護は、メタノール等の有機溶媒に溶解した化合物4の溶液を、p-トルエンスルホン酸等の触媒の存在下に室温で、通常、12時間～1日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程 E においては、化合物 5 の C 6 炭素の水酸基に、 R^4 、すなわちアルキルスルホニル基又はアリースルホニル基を結合させることにより、当該水酸基を $-OR^4$ に転化して化合物 6 を得る。

この $-OR^4$ 基への反応は、有機溶媒に溶解した化合物 5 の溶液に、アルキルスルホニル基を有する化合物又はアリースルホニル基を有する化合物等を添加し、反応させることにより行うことができる。アルキルスルホニル基を有する化合物のアルキル基としては、好ましくは非置換のアルキル基であって、より好ましくは低級アルキル基、さらにより好ましくは炭素数 1 ～ 2 のアルキル基（メチル基、エチル基）が含まれる。アルキルスルホニル基を有する化合物としては、式： $R^{4'}-X$ （式中、 $R^{4'}$ はアルキルスルホニル基を表し、 X はハロゲン原子を表す。）で表されるものを用いることができ、その具体例を挙げると、メタンスルホニルクロリド、エタンスルホニルクロリド等が含まれる。

一方、アリースルホニル基を有する化合物のアリール基としては、非置換又は置換のアリール基であって、好ましくは炭素数 6 のアリール基（例えば、フェニル基）が含まれる。置換したアリール基の場合、その置換基としては、 p -メチル基、 p -メトキシ基等が含まれる。アリースルホニル基を有する化合物としては、式： $R^{4''}-X$ （式中、 $R^{4''}$ はアリースルホニル基を表し、 X はハロゲン原子を表す。）で表されるものを用いることができ、その具体例を挙げると、 p -トルエンスルホニルクロリド、 p -メトキシベ

ンゼンスルホニルクロリド、ベンゼンスルホニルクロリド等が含まれる。

これらのアルキルスルホニル基又はアリールスルホニル基を有する化合物のうち、トシル基を有するものが反応の容易性の観点から好ましい。

工程 E の反応において、有機溶媒としては、ピリジン、ジクロロメタン等を用いることができる。

上記の反応は、必要に応じて、DMA P 等の触媒の存在下に室温で、通常、2 時間～1 日間で行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程 F において、化合物 6 のスルホニルオキシ基 ($-OR^4$) をカルボニルチオ基 ($-SC(=O)R^5$ (ここで、 R^5 は、水素原子、アルキル基又はアリール基を表す。)) に置換する。

この反応では、有機溶媒中の化合物 6 のアルキルスルホニルオキシ基又はアリールスルホニルオキシ基をカルボニルチオ基に置換することのできる化合物 (以下、「O-置換基→S-置換基化合物」ともいう。) を反応させることにより化合物 7 が得られる。

O-置換基→S-置換基化合物には、チオカルボン酸のアルカリ金属塩およびアルカリ土類金属塩が含まれる。チオカルボン酸には、チオギ酸、並びに低級チオカルボン酸、好ましくは炭素数 1～5 の脂肪族炭化水素が置換した脂肪族チオカルボン酸 (例えば、チオ酢酸、チオプロピオン酸)、および好ましくは炭素数 6～10 の芳香族炭化水素が置換した芳

香族チオカルボン酸（例えば、チオ安息香酸）等が含まれる。

これらのチオカルボン酸と塩を形成するアルカリ金属には、カリウム、ナトリウム等が含まれ、アルカリ土類金属には、マグネシウム、カルシウム等が含まれる。

上記O-置換基→S-置換基化合物のうち、チオ酢酸の塩は、反応の安定性の点および後の工程において硫黄原子を酸化しやすい点から好ましく用いることができる。

反応に用いる有機溶媒には、アルコール、好ましくは低級アルコール（例えば、メタノール、エタノール、プロパノール）、N, N-ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド等が含まれる。

上記反応は、通常、室温ないし用いる溶媒の沸点において、通常、1時間～1日間攪拌することにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程Gのジオール化は、t-ブタノールおよび水等の溶媒混液に溶解した化合物7の溶液に、四酸化オスミウム等の酸化剤を添加し、トリメチルアミンN-オキシド等の再酸化剤を共存させ、室温で、通常1時間～1日間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程Hのエステル化反応により、所望の脂肪酸がグリセロールとエステル結合したスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体を得ることができる。この反応は、ジクロロメタン等の適当な有機溶媒に溶解した化合物8の溶液に、最終生成

物に対応する脂肪酸を添加し、必要に応じて、エチルジメチルアミノプロピルカルボジイミド（EDCI）－DMAP系等の適当な触媒の存在下に反応させることにより行うことができる。

工程Hの反応において、添加すべき脂肪酸としては、上述した一般式（I）のR₁₀₁により表されるアシル残基を有する高級脂肪酸を用いることができる。

工程Hの反応により、化合物9において、R₁₀₁およびR₁₀₂が、添加した高級脂肪酸のアシル残基である本発明の一般式（1）で表されるジアシルエステルと、R₁₀₁のみに高級脂肪酸のアシル残基が結合したモノアシルエステルの混合物が得られる。工程Hの反応においては、所望に応じて、添加すべき高級脂肪酸を2種以上用いることもできる。この場合、R₁₀₁およびR₁₀₂が同じアシル残基または異なるアシル残基である一般式（1）で表されるジアシルエステルと、R₁₀₁が互いに異なるアシル残基であるモノエステルとの混合物が得られる。

これらのモノエステルとジエステルの混合物は、必要に応じて、例えば、クロマトグラフィーにより、各々のエステルに単離し、次の工程Iの反応に供することができる。

また、所望により、上記工程Hで得られたモノエステルに対してR₁₀₁のアシル残基とは別のアシル残基を有する脂肪酸を反応させることにより、R₁₀₂とR₁₀₁とが異なるアシル残基であるジエステルを得ることもできる。この更なるエステル化の反応条件は、脂肪酸が異なること以外は、工程H

のものと同一条件に設定することができる。

工程 I のスルホン酸塩化は、酢酸および酢酸カリウムを用いて緩衝した有機溶媒中の化合物 9 の溶液に、OXONE (2KHSO_5 、 KHSO_4 、 K_2SO_4)、等の酸化剤を添加し、室温で 12 ～ 24 時間反応させることにより行うことができる。但し、反応条件の設定によって反応時間は異なる。

工程 J の C2 ～ C4 炭素に結合する保護基の脱保護は、用いた保護基および結合する高級脂肪酸のアシル残基に合った脱保護の方法で行うことができる。例えば、保護基がベンジル基であり、R₁₀₁およびR₁₀₂が飽和の高級脂肪酸のアシル残基である場合、エタノール等の有機溶媒に溶解した化合物 10 の溶液を、パラジウム-活性炭 (Pd-C) 等の触媒の存在下に水素ガス雰囲気下に室温で反応させることにより行うことができる。また、R₁₀₁およびR₁₀₂により表される高級脂肪酸のアシル残基の少なくとも一方が不飽和の高級脂肪酸のアシル残基である場合には、用いた保護基に合った脱保護法であり、なおかつ不飽和脂肪酸の二重結合を維持できる方法により行うことができる。例えば、シリル系の保護基の場合は、酸触媒 (例えば、トリフルオロ酢酸) で脱保護することができる。

なお、出発物質であるマンノースは溶液中で α -アノマーおよび β -アノマーの構造をとりうるため、各工程の生成物は、 α -および β -アノマーの混合物となる。これらの混合物は、クロマトグラフィーに供すること等により分離するこ

とができる。

次に、本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも1種を有効成分として含有する医薬について説明する。

本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体には、ラムノースとグリセロールの結合が α 結合又は β 結合である異性体、グリセロールのC2炭素（不斉炭素）における異性体等が含まれる。本発明の医薬は、その活性に悪影響を及ぼさない限り、これらの異性体を単独で含有することも、2種以上の異性体の混合物を含有することもできる。

本発明において、医薬としての用途には、DNA合成酵素阻害剤および制癌剤が含まれる。

本発明の医薬において用い得る薬学的に許容される塩には、例えば、ナトリウムおよびカリウムのような一価の陽イオンの塩が含まれるが、これらに限定されるものではない。以下、本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群の化合物を「本発明の医薬活性物質」ともいう。

本発明の医薬活性物質は、例えば、経口投与、非経口投与することができる。本発明の医薬活性物質は、これらの投与経路に応じて、適切な薬学的に許容される賦形剤又は希釈剤等と組み合わせることにより薬学的製剤にすることができる。

経口投与に適した剤型としては、固体、半固体、液体又は

気体等の状態のものが含まれ、具体的には、錠剤、カプセル剤、粉末剤、顆粒剤、溶液剤、懸濁剤、シロップ剤、エリキシル剤等を挙げることができるが、これらに限定されるものではない。

本発明の医薬活性物質を錠剤、カプセル剤、粉末剤、顆粒剤、溶液剤、懸濁剤等に製剤化するためには、それ自体は既知の方法を用いて、本発明の医薬活性物質をバインダー、錠剤崩壊剤、潤滑剤等と混合し、さらに、必要に応じて、希釈剤、緩衝剤、浸潤剤、保存剤、フレーバー剤等と混合することにより行うことができる。一例を挙げると、上記バインダーには、結晶セルロース、セルロース誘導体、コーンスターチ、ゼラチン等が、錠剤崩壊剤には、コーンスターチ、馬鈴薯デンプン、カルボキシメチルセルロースナトリウム等が、潤滑剤には、タルク、ステアリン酸マグネシウム等が含まれ、さらには、ラクトース、マンニトール等のような従来用いられている添加剤等を用いることができる。

また、本発明の医薬活性物質は、液体、微細粉末の形態のものを、気体又は液体の噴霧剤と共に、又は必要に応じて浸潤性付与剤のような既知の助剤と共に、エアロゾル容器、ネブライザーのような非加圧容器に充填し、エアロゾル剤又は吸入剤の形態で投与することもできる。噴霧剤としては、ジクロロフルオロメタン、プロパン、窒素等の加圧ガスを用いることができる。

本発明の医薬活性物質を非経口投与する場合、例えば、直腸投与および注射等により投与することができる。

直腸投与には、例えば、坐薬として投与することができる。坐薬は、それ自体は既知の方法により、本発明の医薬活性物質を、体温で融解するが室温では固化しているカカオバター、カーボンワックス、ポリエチレングリコールのような賦形剤と混合し、成形することにより製剤化することができる。

注射による投与としては、皮下、皮内、静脈内、筋肉内等に投与することができる。これらの注射用製剤は、それ自体は既知の方法により、本発明の医薬活性物質を、植物性油、合成脂肪酸グリセリド、高級脂肪酸のエステル、プロピレングリコールのような水性又は非水性の溶媒中に溶解、懸濁又は乳化し、さらに、所望により、可溶化剤、浸透圧調節剤、乳化剤、安定剤および保存料のような従来用いられている添加剤と共に製剤化することができる。

本発明の医薬活性物質を溶液、懸濁液、シロップ、エリキシル等の形態にするためには、注射用滅菌水や規定生理食塩水のような薬学的に許容される溶媒を用いることができる。

本発明の医薬活性物質は、薬学的に許容される他の活性を有する化合物と併用して薬学的製剤とすることもできる。

本発明の医薬活性物質の投与量は、投与形態、投与経路、対象とする疾病の程度や段階等に応じて適宜設定、調節することができる。一例を挙げると、経口投与する場合は、医薬活性物質として、 $1 \sim 10 \text{ mg/kg}$ 体重/日、注射剤として投与する場合は、医薬活性物質として、 $1 \sim 5 \text{ mg/kg}$ 体重/日、直腸投与する場合は、医薬活性物質として、 $1 \sim 5 \text{ mg/k}$

g 体重 / 日に設定することができるが、これらに限定されるものではない。

本発明の医薬活性物質を制癌剤として用いる場合、本発明の医薬活性物質が効果を奏することのできる癌には、悪性腫瘍としての性質を有するものが含まれ、例えば、ヒトを含むほ乳類の腺癌、上皮癌、肉腫、神経膠腫、黒色腫、リンパ腫等のような固形癌、および白血病等のような液性癌がある。

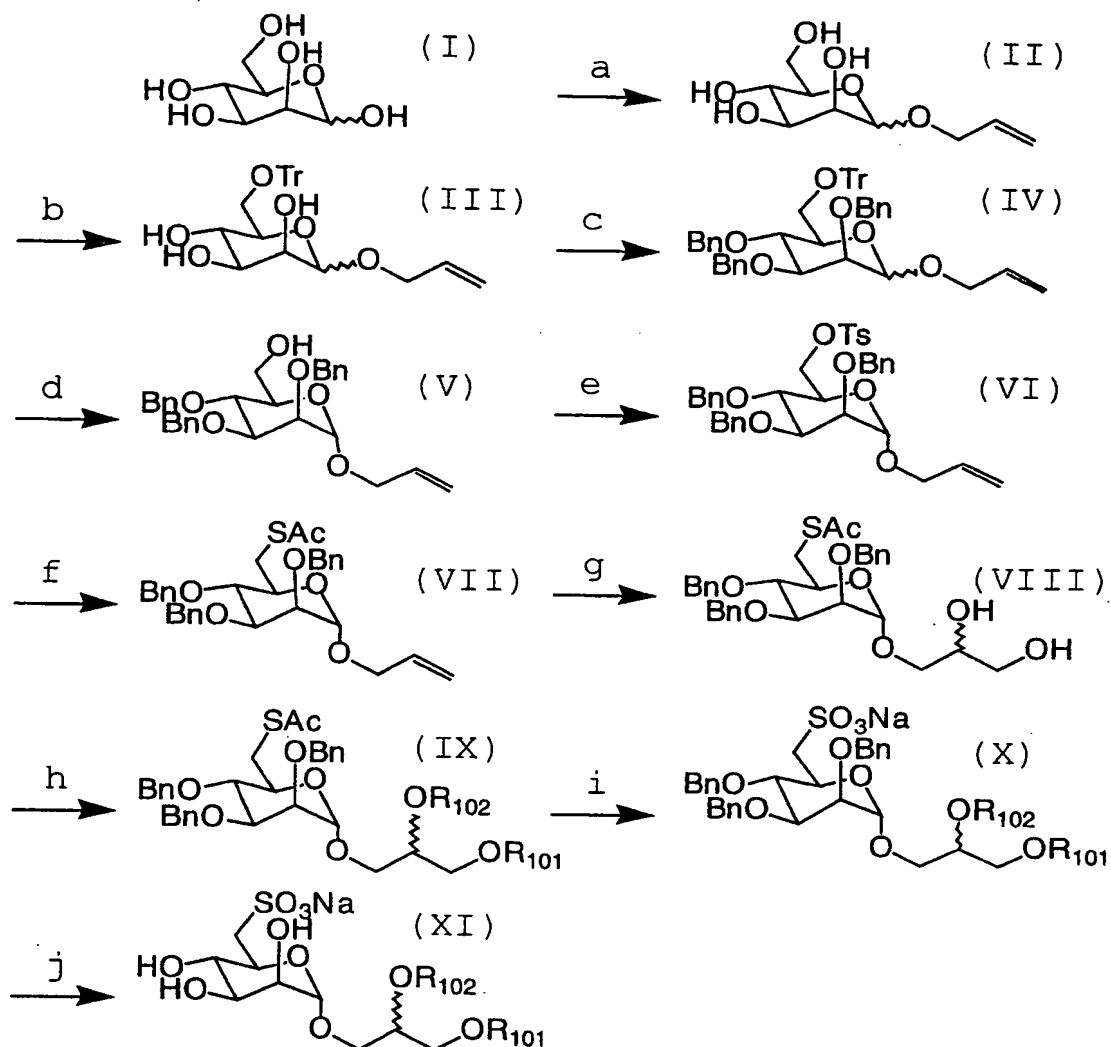
実施例

以下、本発明を例を挙げて説明する。しかしながら、本発明は、これらの例に限定されるものではない。

合成例

本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体の製造例を次のスキーム 2 に示す。

スキーム 2



Tr=トリチル基、Bn=ベンジル基、Ts=トシル基、AcS=アセチルチオ基、R₁₀₁は高級脂肪酸のアシル残基を、R₁₀₂は水素又は高級脂肪酸のアシル残基を表す。

反応条件

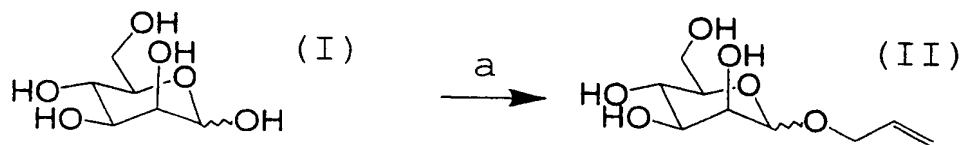
- a; アリールアルコール、トリフルオロメタンスルホン酸、90℃
 b; ピリジン、トリチルクロリド、p-シメチルアミノピリジン(DMAP)、室温
 c; 水素化ナトリウム、ベンジルフホルミト、N,N-シメチルホルムアミド、室温
 d; メタノール、p-トルエンスルホン酸一水和物、室温
 e; ピリジン、p-トルエンスルホンクロリド、DMAP、室温
 f; エタノール、チオ酢酸カリウム、還流
 g; t-ブタノール、水、四酸化オスミウム、トリメチルアミンN-オキシド二水和物、室温
 h; シクロメタン、脂肪酸、DMAP、
 1-エチル-3-(3-シメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩、室温
 i; 酢酸、酢酸カリウム、OXONE、室温
 j; エタノール、パラジウム-炭素、水素、室温

上記スキーム 2 では、工程 h により得られるモノエステルとジエステルの混合物は、クロマトグラフィーにより分離し、各々のエステルを工程 i に供することができる。

< 例 1 >

工程 a ; 1-0-(2-プロペニル)-D-マンノース (II)

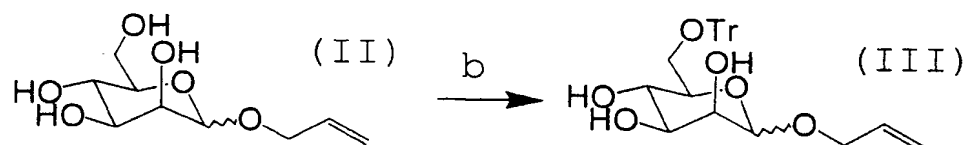
D-マンノース (I) 50.5 g (281 mmol) をアシルアルコール 125 mL に加え十分に溶解し、その溶液に氷冷下にてトリフルオロメタンスルホン酸 0.5 mL を徐々に添加した。その後油浴下 90℃ で攪拌しながら 48 時間反応させた。反応が十分進行した段階でトリエチルアミン 1 mL で中和した後、減圧濃縮した。薄層クロマトグラフィーにおいて約 70% の収率を確認した。



工程 b ; 1-0-(2-プロペニル)-6-0-トリフェニルメチル-D-マンノース (III)

化合物 (II) 50.0 g (227 mmol) を乾燥ピリジン 200 mL に溶解し、その溶液にトリチルクロリド 82.3 g (295 mmol)、p-ジメチルアミノピリジン (DMAP) 1.0 g (8.20 mmol) を添加し、攪拌しながら室温で 48 時間反応した。その後冷水 300 mL を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出 (300 mL × 3 回) し、有機層を合わせて 1.0 N 塩酸で pH 4 まで中和し、飽和食塩水で洗浄 (300 mL × 2 回) 後、無水硫酸

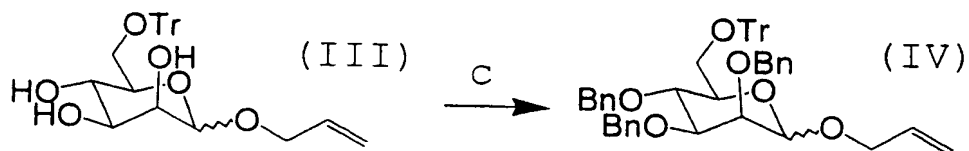
ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー（ジクロロメタン：メタノール＝20：1）で精製し、淡黄色油状物質を得た。薄層クロマトグラフィーにおいて約80%の収率を確認した。



工程 c ; 2, 3, 4-トリ-0-ベンジル-1-0-(2-プロペニル)-6-0-トリフェニルメチル-D-マンノース (IV)

ミネラルオイル中に拡散されている80% 水素化ナトリウム7.40g (247mmol)を反応器に取り、乾燥ヘキサン100mLでよく洗浄した後ヘキサンを取り除き、乾燥 N,N-ジメチルホルムアミドに溶解した化合物 (III) 29.4g (63.6mmol)を氷冷下にて徐々に添加し、15分後室温に戻し、撹拌しながら1時間反応した。

次に再び氷冷下にてベンジルブロミド 41.8g (244mmol)を徐々に添加し、15分後室温に戻し、撹拌しながら3時間反応した。その後メタノール100mL、冷水100mLを加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出(300mL×3回)し、有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄(300mL×2回)後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル＝10：1）で精製し、淡黄色油状物質を得た（収量39.6g 54.1mmol、収率86.1%）



工程 d ; 2, 3, 4-トリ-0-ベンジル-1-0-(2-プロペニル)- α -D-マンノース (V)

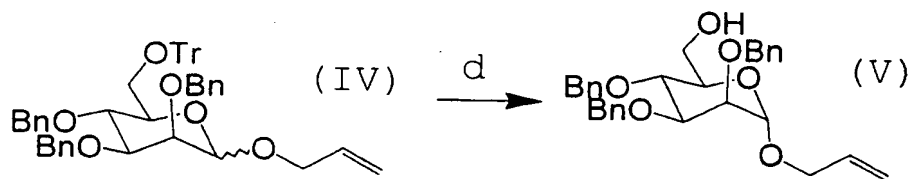
化合物 (IV) 39.6 g (54.1 mmol) をメタノール 300 mL に溶解し、p-トルエンスルホン酸一水和物 15.0 g (78.9 mmol) を添加し、攪拌しながら一晩反応した。その後冷水 400 mL を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出 (300 mL \times 3 回) し、有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄 (300 mL \times 2 回) 後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 6 : 1 \rightarrow 4 : 1) で精製し、無色透明油状物質を得た (19.7 g 40.2 mmol、収率 74.3%)。[α]_D = +31.2° (c 1.0 3、CHCl₃)

IR (流動パラフィン、cm⁻¹) ; 3430 (OH)、3050 & 3020 (Ar)、1940 & 1860 & 1800 & 1710 (一置換 Ar)、1630 (末端二重結合)、1590 & 1575 & 1485 (Ar)、1110 ~ 970 (CO)、905 & 825 & 790 (α -ヘキソース)

¹H NMR (300 MHz、CDCl₃+TMS、 δ) ; 7.39 ~ 7.20 (15H、m、Ar)、5.85 ~ 5.72 (1H、m、-CH=CH₂)、5.17 (1H、dd、J = 1.5 & 8.6、-CH=CH₂)、5.11 (1H、dd、J = 1.5 & 5.2、-CH=CH₂)、4.94 ~ 4.49 (6

H、m、Ar-CH₂)、4.83 (1H、d、J=1.5、H-1)、4.12
 ~3.64 (8H、m、H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a,
 b & -O-CH₂-CH=CH₂)

¹³C NMR (300MHz、CDCl₃、δ) ; 138.2 & 138.1
 & 137.9 (Ar-ipso)、133.4 (-CH=CH₂)、128.1~1
 27.3 (Ar) ; 117.0 (-CH=CH₂)、97.0 (C-1)、79.8
 & 74.9 & 74.5 & 74.4 & 72.6 & 72.2 & 71.9
 & 67.5 (Ar-CH₂-O & -O-CH₂-CH=CH₂ & C-2 & C-
 3 & C-4 & C-5)、61.7 (C-6)



工程 e ; 2, 3, 4-トリ-0-ベンジル-1-0-(2-プロペニル)-
 6-0-(4-トリルスルホニル)-α-D-マンノース (VI)

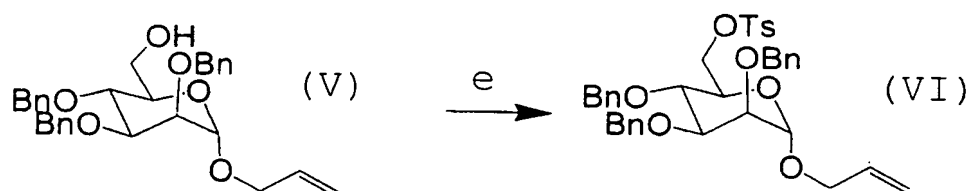
化合物 (V) 7.93 g (16.2 mmol) を乾燥ピリジン 100
 mL に溶解し、DMAP 100 mg (818 μmol)、p-トルエンスル
 フォニルクロリド 5.69 g (29.8 mmol) を添加し、攪拌
 しながら室温で一晩反応した。その後、冷水 200 mL を加え
 て反応を停止し、酢酸エチルで抽出 (200 mL × 3 回) し、有
 機層を合わせて 1.0 N および 0.1 N 塩酸で pH 4 まで中和
 し、飽和食塩水で洗浄 (300 mL × 2 回) 後、無水硫酸ナトリ
 ウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロ
 マトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 4 : 1) で精製し、
 無色透明油状物質を得た (収量 9.96 g 15.5 mmol、収率 9

5.68%) $[\alpha]_D = +34.1^\circ$ (c 1.62, CHCl_3)

IR (流動パラフィン、 cm^{-1}) ; 3030 & 3000 (Ar)、1950 & 1855 & 1805 & 1695 (一置換Ar)、1635 (末端二重結合)、1590 & 1575 & 1485 (Ar)、1120~980 (C-O)、900 & 850 & 775 (α -ヘキソース)

^1H NMR (300MHz、 $\text{CDCl}_3 + \text{TMS}$ 、 δ) ; 7.78 (2H、d、Ts Me側のH)、7.36~7.24 (15H、m、Ar)、7.19 (1H、d、 $J = 3.2$ 、Ts SO_2 側のH)、7.17 (1H、d、 $J = 1.9$ 、Ts SO_2 側のH)、5.85~5.72 (1H、m、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$)、5.18 (1H、dd、 $J = 1.5$ & 13.7、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$)、5.18 (1H、dd、 $J = 1.5$ & 6.9、 $-\text{CH}=\text{CH}_2$)、4.88 (1H、d、 $J = 10.7$ 、 $\text{Ar}-\text{CH}_2$)、4.71 (1H、d、 $J = 12.4$ 、 $\text{Ar}-\text{CH}_2$)、4.66 (1H、d、 $J = 12.4$ 、 $\text{Ar}-\text{CH}_2$)、4.58 (2H、s、 $\text{Ar}-\text{CH}_2$)、4.46 (1H、d、 $J = 10.7$ 、 $\text{Ar}-\text{CH}_2$)、4.79 (1H、d、 $J = 1.6$ 、H-1)、4.29~3.76 (8H、H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a, b & $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$)、2.40 (3H、s、Ts CH_3)

^{13}C NMR (300MHz、 CDCl_3 、 δ) ; 144.6 (Ts SO_2 側の ipso)、138.2 & 138.1 & 137.9 (Ar-ipso)、133.4 ($-\text{CH}=\text{CH}_2$)、132.96 (Ts Me側の ipso)、129.7 (TsのAr)、128.4~127.6 (Ar)、117.5 ($-\text{CH}=\text{CH}_2$) : 96.8 (C-1)、80.0 & 75.1 & 74.3 & 74.0 & 72.6 & 72.0 & 70.1 & 69.2 & 67.9 (Ar- CH_2 -O & $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$ & C-2 & C-3 & C-4 & C-5 & C-6)、21.6 (Ts CH_3)



工程 f ; 2, 3, 4-トリ-0-ベンジル-1-0-(2-プロペニル)-6-デオキシ-6-アセチルチオ- α -D-マンノース (VII)

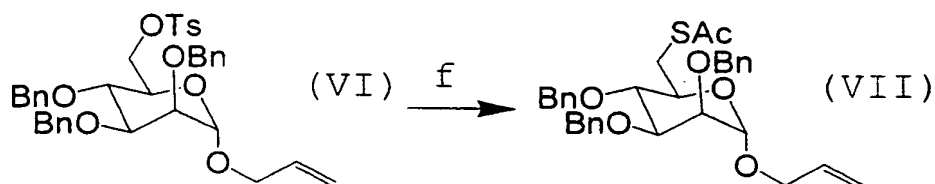
化合物 (VI) 9.90 g (15.4 mmol) を乾燥エタノール 100 mL に溶解し、チオ酢酸カリウム 3.52 g (30.8 mmol) を添加し、還流条件下で攪拌しながら 4 時間反応した。その後、冷水 200 mL を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出 (200 mL \times 3 回) し、有機層を合わせて飽和食塩水で洗浄 (200 mL \times 2 回) 後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 10 : 1) で精製し、淡黄色油状物質を得た (収量 7.81 g 14.2 mmol、収率 92.2%)。[α]_D = +32.1° (c 1.05, CHCl₃)

IR (流動パラフィン、cm⁻¹) ; 3120 & 3040 (Ar)、1950 & 1870 & 1800 (一置換 Ar)、1680 (SCOC H₃)、1640 (末端二重結合)、1595 & 1575 & 1490 (Ar)、1135 ~ 910 (C-O)、830 & 785 (α -ヘキソース)

¹H NMR (300 MHz、CDCl₃+TMS、 δ) ; 7.40 ~ 7.16 (15H、m、Ar)、5.86 ~ 5.74 (1H、m、-CH=CH₂)、5.23 ~ 5.13 (2H、m、-CH=CH₂)、4.96 ~ 4.56 (6H、

m、Ar-CH₂)、4.70 (1H、d、J=1.5、H-1)、4.16～3.56 (7H、m、H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a & -O-CH₂-CH=CH₂)、3.13～3.06 (1H、m、H-6b)、2.30 (3H、s、Ts CH₃)

¹³C NMR (300MHz、CDCl₃、δ) ; 194.8 (SC₀)、138.1 & 138.0 (Ar-ipso)、133.3 (-CH=CH₂)、128.2～127.4 (Ar)、117.3 (-CH=CH₂)、96.7 (C-1)、79.8 & 77.3 & 75.1 & 74.4 & 72.5 & 72.0 & 67.5 (Ar-CH₂-O & -O-CH₂-CH=CH₂ & C-2 & C-3 & C-4 & C-5)、31.0 (SC₀CH₃)、30.3 (C-6)。



工程 g ; 3-O-(2,3,4-トリ-O-ベンジル-6-デオキシ-6-アセチルチオ-α-D-マンノピラノシル)-グリセロール (VIII)

化合物 (VII) 7.72 g (14.1 mmol) を t-ブタノール : 水 = 4 : 1 溶液 80 mL に溶解し、トリメチルアミン N-オキシド二水和物 2.5 g (22.5 mmol)、四酸化オスミウム-t-ブタノール溶液 (0.04 M) 20 mL を添加し、攪拌しながら室温で 24 時間反応した。その後活性炭 15 g を加え、攪拌しながら室温で 2 時間放置し、四酸化オスミウムを吸着させた後、吸引濾過した。次に冷水 200 mL を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出 (200 mL × 3 回) し、有機層を合わせて飽和

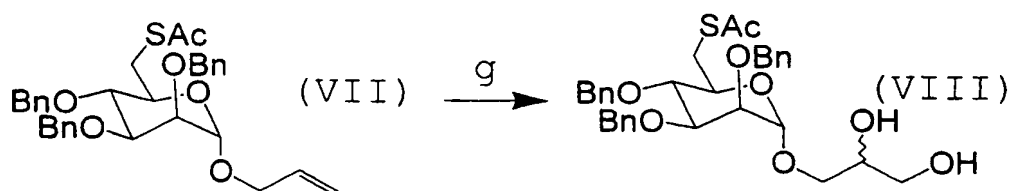
食塩水で洗浄(300 mL × 2回)後、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(ヘキサン:酢酸エチル=1:1)で精製し、淡黄色油状物質を得た(収量6.91g 11.9 mmol、収率84.4%)。

$[\alpha]_D = +43.3^\circ$ (c 1.02, CHCl₃)

IR (流動パラフィン、cm⁻¹) ; 3400 (OH)、3060 & 3020 (Ar)、1950 & 1870 & 1800 (一置換Ar)、1670 (SCoCH₃)、1595 & 1575 & 1490 (Ar)、1130 ~ 950 (C-O)、905 & 830 & 785 (α-ヘキソース)

¹H NMR (300MHz、CDCl₃+TMS、δ) ; 7.39 ~ 7.25 (15H、m、Ar)、4.94 ~ 4.58 (7H、m、Ar-CH₂ & H-1)、3.82 ~ 3.38 (9H、m、H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a & Gly-H-1a, b & Gly-H-3a, b)、3.05 (1H、dd、J=7.7 & 13.6、H-6b)、2.33 (3H、s、SCoCH₃)

¹³C NMR (300MHz、CDCl₃、δ) ; 195.4 (SCo)、138.1 & 138.0 & 137.9 (Ar-ipso)、128.4 ~ 127.7 (Ar)、98.4 & 98.3 (C-1 (R or S))、79.6 & 75.3 & 74.6 & 72.8 & 72.3 & 71.2 & 70.6 & 70.5 & 69.1 & 68.8 & 63.51 & 63.47 (Ar-CH₂-O & C-2 & C-3 & C-4 & C-5 & Gly-C-1 & Gly-C-2 & Gly-C-3)、31.1 (SCoCH₃)、30.5 (C-6)



工程 h ; 3-0-(2,3,4-トリ-0-ベンジル-6-デオキシ-6-アセチルチオ- α -D-マンノピラノシル)-1,2-ジ-0-ステアロイル-グリセロール (IX-1) および 3-0-(2,3,4-トリ-0-ベンジル-6-デオキシ-6-アセチルチオ- α -D-マンノピラノシル)-1-0-ステアロイル-グリセロール (IX-2)

化合物 (VIII) 556 mg (955 μ mol) を乾燥ジクロロメタン 20 mL に溶解し、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド塩酸塩 (EDCI) 490 mg (2.56 mmol)、DMAP 10 mg (81.8 μ mol)、ステアリン酸 360 mg (1.27 mmol) を添加し、攪拌しながら室温にて 3 時間反応した。その後ジクロロメタン 100 mL を加え反応を停止し、飽和食塩水で洗浄 (50 mL \times 2 回) し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (ヘキサン : 酢酸エチル = 8 : 1 \rightarrow 3 : 1) でジエステルおよびモノエステルを分離精製した (収量ジエステル 345 mg 309 μ mol ; モノエステル 375 mg 442 μ mol、収率 (双方合わせて) 81.9%)

○ジエステル体 ; 白濁したろう状物質。[α]_D = +20.8° (c 6.36, CHCl₃)
IR (CHCl₃, cm⁻¹) ; 1720 (OCOCH₂)、1690 (SCOCH₃)、1490 (Ar)、1120~1020 (C-O)

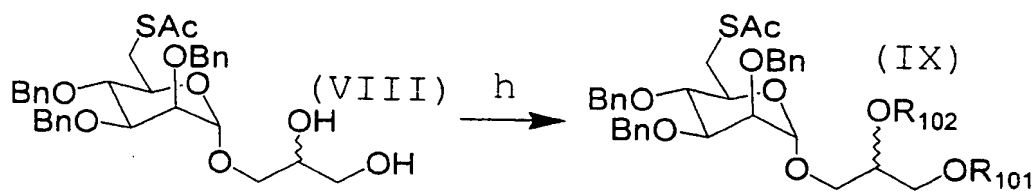
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃+TMS, δ) ; 7.37~7.26 (15H, m, Ar)、5.21~5.14 (1H, m, Gly-H-2)、4.95~4.59 (7H, m, Ar-CH₂ & H-1)、4.31~3.05

(10H、m、H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a, b & Gly-H-1a, b & Gly-H-3a, b)、2.35 (3H、s、SCOCH₃)、2.30 (4H、m、OCOCH₂)、1.60 (4H、m、OCOC H₂CH₂)、1.26 (56H、br、-CH₂-)、0.89 (6H、t、J = 6.5、CH₃)

○モノエステル体；無色透明油状物質。 $[\alpha]_D = +28.4^\circ$ (c 4.79、CHCl₃)

IR (CHCl₃、cm⁻¹)；3350 (OH)、1700 (OCOCH₂)、1680 (SCOCH₃)、1490 (Ar)、1120~980 (C-O)、900 & 850 & 775 (α -ヘキソース)

¹H NMR (300MHz、CDCl₃+TMS、 δ)；7.37~7.25 (15H、m、Ar)、4.95~4.59 (7H、m、Ar-CH₂ & H-1)、4.16~3.36 (10H、m、H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a, b & Gly-H-1a, b & Gly-H-2 & Gly-H-3a, b)、3.08 (1H、dd、J = 7.8 & 13.4、H-6b)、2.36~2.31 (5H、m、SCOCH₃ & OCOCH₂)、1.62 (2H、m、OCOC H₂CH₂)、1.25 (28H、br、-CH₂-)、0.88 (3H、t、J = 6.3、CH₃)



(IX-1；R₁₀₁=R₁₀₂=ステアロイル；
IX-2；R₁₀₁=ステアロイル，R₁₀₂=H)

工程 i-1 ; 3-0-(2,3,4-トリ-0-ベンジル-6-デオキシ-6-スルホ- α -D-マンノピラノシル)-1,2-ジ-0-ステアロイル-グリセロール・ナトリウム塩 (X-1)

化合物 (IX-1) 307mg (275 μ mol) を酢酸 15mL に溶解し、酢酸カリウム 513mg、OXONE (2KHSO₅、KHSO₄、K₂SO₄) 504mg を添加し、攪拌しながら室温にて一晚反応した。その後冷水 50mL を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出 (50mL \times 5回) し、有機層を合わせて飽和炭酸水素ナトリウム溶液で中和後、飽和食塩水で洗浄 (100mL \times 2回) し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー (クロロホルム : メタノール = 10 : 1) で精製し、白色非結晶状固形物質を得た (収量 304mg 266 μ mol、収率 96.7%)。融点 ; 58~60°C。[α]_D = +4.0° (c 1.51、CHCl₃)

IR (CHCl₃、cm⁻¹) ; 3030 (Ar)、1720 (OCOCH₂)、1490 (Ar)、1200 (SO₃)、1180~980 (C-O)

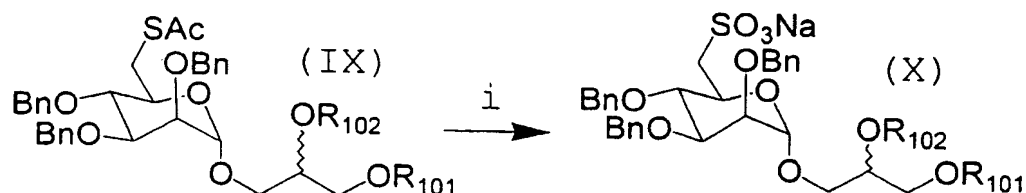
¹H NMR (300MHz、CDCl₃+TMS、 δ) ; 7.27~7.22 (15H、m、Ar)、5.30~5.24 (1H、m、Gly-H-2)、4.96-4.50 (7H、m、Ar-CH₂ & H-1)、4.34-3.21 (10H、m、H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a, b & Gly-H-1a, b & Gly-H-3a, b)、2.71 (4H、br、OCOCH₂)、2.22 (4H、br、OCOCH₂CH₂)、1.52 (4H、br、OCOCH₂CH₂CH₂)、1.26 (52H、br、-CH₂-)、0.88 (6H、t、J = 6.6、CH₃)

工程 i-2 ; 3-0-(2,3,4-トリ-0-ベンジル-6-デオキシ-6-スルホ- α -D-マンノピラノシル)-1-0-ステアロイル-グリセロール・ナトリウム塩(X-2)

化合物 (IX-2) 401mg (473 μ mol) を酢酸 20mL に溶解し、酢酸カリウム 500mg、OXONE (2KHSO₅、KHSO₄、K₂SO₄) 416mg を添加し、攪拌しながら室温にて一晩反応した。その後冷水 50mL を加えて反応を停止し、酢酸エチルで抽出(50mL \times 5回)し、有機層を合わせて飽和炭酸水素ナトリウム溶液で中和後、飽和食塩水で洗浄(100mL \times 2回)し、無水硫酸ナトリウムで乾燥、濾過、減圧濃縮し、シリカゲルフラッシュクロマトグラフィー(クロロホルム : メタノール = 8 : 1) で精製し、白色非結晶状固形物質を得た(収量 196mg 224 μ mol、収率 47.4%)。融点 ; 57 ~ 59 $^{\circ}$ C。
[α]_D = +5.4 $^{\circ}$ (c 2.76、CHCl₃)

IR (CHCl₃, cm⁻¹) ; 3400 (OH)、3060 & 3020 (Ar)、1720 (OCOCH₂)、1490 (Ar)、1200 (SO₃)、1180 ~ 1020 (C-O)、900 & 850 & 775 (α -ヘキソース)

¹H NMR (300MHz、CD₃OD+CDCl₃+TMS, δ) ; 7.27 ~ 7.21 (15H、m、Ar)、4.87-4.51 (7H、m、Ar-CH₂ & H-1)、4.24-3.23 (11H、m、H-2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a, b & Gly-H-1a, b & Gly-H-2 & Gly-H-3a, b)、2.23 (2H、br、OCOCH₂)、1.50 (2H、br、OCOCH₂CH₂)、1.25 (28H、br、-CH₂-)、0.88 (3H、t、J = 6.6、CH₃)



(X-1; R₁₀₁=R₁₀₂=ステアロイル:
X-2; R₁₀₁=ステアロイル, R₁₀₂=H)

工程 j-1 ; 3-O-(6-デオキシ-6-スルホ- α -D-マンノピラ
ノシル)-1,2-ジ-O-ステアロイル-グリセロール・ナトリ
ウム塩 (XI-1)

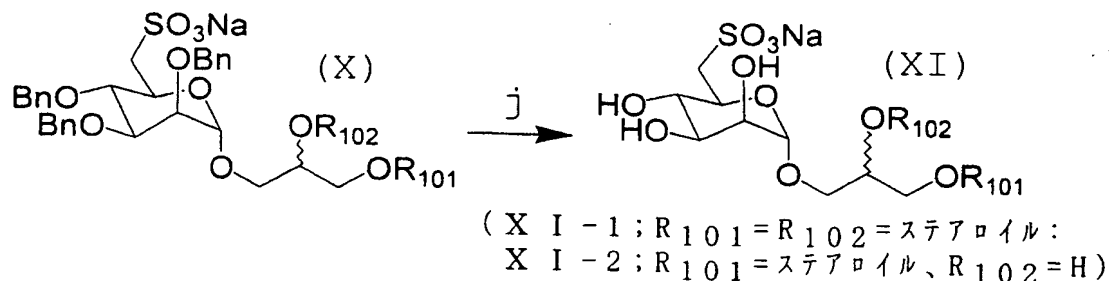
化合物 (X-1) 282 mg (247 μ mol) をエタノール 30 mL
に溶解し、10%パラジウム-炭素 (Pd-C) 1.00 g を添加
し、フラスコ内を水素で置換し、攪拌しながら室温で一晩反
応した。反応液を吸引濾過し、減圧濃縮後、シリカゲルフラ
ッシュクロマトグラフィー (クロロホルム : メタノール = 1
0 : 1 \rightarrow クロロホルム : メタノール : 水 = 70 : 30 : 4) で精
製し、白色非結晶状固形物質を得た (収量 86.5 mg 99.1 μ
mol、収率 40.1%)。

¹H NMR (300 MHz、CD₃OD+TMS、 δ) ; 5.31~5.30
(1H、m、Gly-H-2)、4.49-2.94 (11H、m、H-1 & H-
2 & H-3 & H-4 & H-5 & H-6a, b & Gly-H-1a, b
& Gly-H-3a, b)、2.36-2.28 (4H、br、OCOCH₂)
(2)、1.60-1.58 (4H、br、OCOCH₂CH₂)、1.52 (4H、
br、OCOCH₂CH₂CH₂)、1.26 (52H、br、-CH₂-)、0.
88 (6H、t、J=6.6、CH₃)

工程 j-2 ; 3-O-(6-デオキシ-6-スルホ- α -D-マンノピ
ラノシル)-1-O-ステアロイル-グリセロール・ナトリウム
塩 (XI-2)

化合物 (X-2) 163 mg (186 μ mol) をエタノール 15 mL
に溶解し、10% Pd-C 1.00 g を添加し、フラスコ内を水素
で置換し、攪拌しながら室温で一晩反応した。反応液を吸引
濾過し、減圧濃縮後、シリカゲルフラッシュクロマトグラフ
イー(クロロホルム：メタノール=10：1→クロロホルム：
メタノール：水=70：30：4) で精製し、白色非結晶状固形
物質を得た(収量 68.5 mg 113 μ mol、収率 60.7%)。
[α]_D = +15.4° (c 0.26, CH₃OH)

¹H NMR (300 MHz, CD₃OD+CDCl₃+TMS, δ) ; 4.78
(1H, m, H-1)、4.09-3.22 (10H, m, H-2 & H-3 &
H-4 & H-5 & H-6a & Gly-H-1a, b & Gly-H-2 &
Gly-H-3a, b)、2.96 (1H, dd, J=14.3 & 9.1, H-6
b)、2.37 (2H, br, OCOC \underline{H}_2)、1.63 (2H, br, OCOC
H₂ $\underline{C}H_2$)、1.27 (28H, br, - $\underline{C}H_2$ -)、0.89 (3H, t, J
= 6.6, $\underline{C}H_3$)



< 例 2 >

上記例 1 の工程 h において用いたステアリン酸の代わり

に、ミリスチン酸を用いたこと以外は例1と同様に工程h～jの反応を行い、3-O-(6-デオキシ-6-スルホ- α -D-マンノピラノシル)-1-O-ミリストイル-グリセロール・ナトリウム塩を合成した(収量70.3mg 128 μ mol、収率71.4%)。[α]_D = +32.7° (c 0.52, CH₃OH)

<例3>

上記例2と同様、ステアリン酸の代わりに、パルミチン酸を用いることにより、3-O-(6-デオキシ-6-スルホ- α -D-マンノピラノシル)-1-O-パルミトイル-グリセロール・ナトリウム塩を合成した(収量78.4mg 136 μ mol、収率75.7%)。[α]_D = +29.4° (c 0.51, CH₃OH)

本発明の一般式(1)で表される化合物についての生理学的アッセイを行った。

<アッセイ1>

DNA合成酵素 α 型に対する阻害効果検定を次の方法により行った。

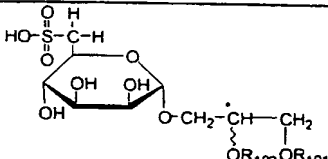
ウシ胸腺から抗体カラムによって単一に精製されたDNA合成酵素 α 型0.05Uおよび被験化合物(DMSOに溶解した、下記表1に示すスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体(以下、「SRAG」と省略する)SRAG1、SRAG2、SRAG3、SRAG4)をそれぞれ混合し、更に酵素反応に必要な無機塩類緩衝液、[³H]ラベルされたdTTP、鋳型DNA鎖を含む反応用コンパウンドを加え、37℃で60分間インキュベートした。

酵素反応を止めた後、反応後生成物を専用フィルターに定

着させ、液体シンチレーションカウンターにより測定した。酵素合成されたdTTP量を、 $[^3\text{H}]$ 放射線量(cpm)として結果を算出した。なお、用いたスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体は、何れも、グリセロールの2位の炭素における絶対配置がSであるものとRであるものの混合物である。

得られた結果をIC₅₀として次の表1に併せて示す。

表1: DNA合成酵素 α 型に対する阻害効果

化合物			DNA合成酵素阻害活性 IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	R ₁₀₁	R ₁₀₂	
SRAG1	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ CO-	H	13.0
SRAG2	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO-	H	3.3
SRAG3	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO-	H	2.0
SRAG4	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO-	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO-	0.1

上記表1から明らかなように、試験した化合物はいずれもDNA合成酵素 α 型に対する有意な阻害活性を有している。

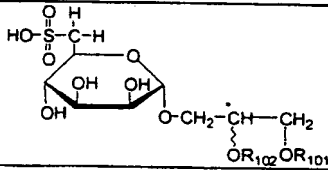
<アッセイ2>

DNA合成酵素 β 型に対する阻害効果検定を次の方法により行った。

ラット由来のDNA合成酵素 β 遺伝子を通常の遺伝子組み換え法により大腸菌に組み込み、生産させたDNA合成酵素 β 型標品0.05UをDNA合成酵素 α 型の代わりに用いた他はアッセイ1と同様の方法により、DNA合成酵素 β 型に対する被験化合物(DMSOに溶解した上記表1に示す化合物SRAG1、SR

AG2、SRAG3)の阻害効果を検定した。得られた結果を次の表2に示す。

表2：DNA合成酵素β型に対する阻害効果

化合物			DNA合成酵素 阻害活性
	R101	R102	IC50 (μg/mL)
SRAG1	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ CO-	H	50<
SRAG2	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO-	H	16.6
SRAG3	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ CO-	H	6.71

上記表2から明らかなように、試験した化合物のうちSRAG1は試験した濃度では阻害効果を示さなかったが、SRAG2およびSRAG3はいずれもDNA合成酵素β型に対する有意な阻害活性を有している。

上記アッセイ1およびアッセイ2で示された通り、本発明のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体はDNA合成酵素阻害剤として活性のあるものであった。

次の2つのアッセイにおいて用いた大腸癌および胃癌細胞は、本発明の医薬活性物質が効果を奏することのできる癌細胞の一例である。即ち、これらのアッセイは、本発明の医薬活性物質が効果を奏し得る癌細胞を限定することを意図するものではない。

<アッセイ3>

大腸癌培養細胞に対する制癌テストを次の方法で行った。

大腸癌細胞DLD-1を、RPMI1640培地（10%子ウシ血清

含有)で維持、継代した。被験化合物(上記表1に示す化合物SRAG1~SRAG3)をそれぞれ培地に懸濁、希釈し、 3×10^3 個/ウェルの細胞と共に、96穴シャーレで培養した。48時間培養後、MTTアッセイ(Mosmann, T: Journal of immunological method, 65, 55-63(1983))を行い、生存率を比較した。

得られた結果をIC₅₀として次の表3に示す。

表3：大腸癌細胞に対する制癌活性

化合物	SRAG1	SRAG2	SRAG3
IC ₅₀ (μ g/mL)	42.5	30	14

上記表3から明らかなように、試験した化合物は、何れも有意な大腸癌細胞に対する制癌活性を有する。

試験した化合物は、各々単独で、従来の技術の欄で述べた佐原ら(British Journal of Cancer, 75(3), 324-332(1997))が開示するスルホキノボシルアシルグリセロール誘導体の混合物と同レベル又はそれ以上の制癌活性を有するとみられる。

<アッセイ4>

胃癌培養細胞に対する制癌テストを、大腸癌細胞DLD-1の代わりに胃癌細胞NUGC-3を用いた以外はアッセイ3と同じ方法で行った。

得られた結果をIC₅₀として次の表4に示す。

表 4 : 胃癌細胞に対する制癌活性

化合物	SRAG1	SRAG2	SRAG3
IC ₅₀ (μ g/mL)	45	40	28.5

上記表 4 から明らかなように、試験した化合物は、何れも有意な胃癌細胞に対する制癌活性を有する。

試験した化合物は、各々単独で、従来 of 技術の欄で述べた佐原ら (British Journal of Cancer, 75(3), 324-332(1997)) が開示するスルホキノボシルアシルグリセロール誘導体混合物と同レベル又はそれ以上の制癌活性を有するとみられる。

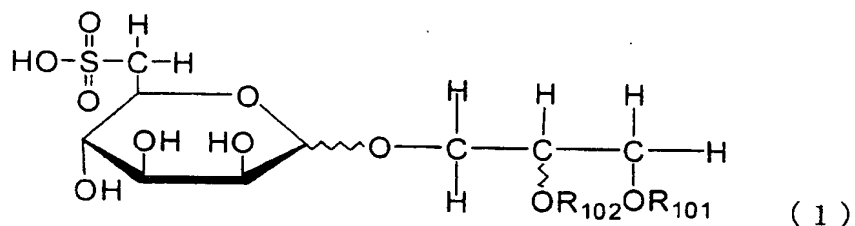
産業上の利用可能性

以上説明したように、本発明によれば、一般式 (1) により表される新規なスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体が提供される。

また、本発明によれば、一般式 (1) により表されるスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体およびその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも 1 種を有効成分として含有する医薬が提供される。

請求の範囲

1. 次の一般式 (1) :



(式中、R₁₀₁は、高級脂肪酸のアシル残基を表し、R₁₀₂は、水素原子又は高級脂肪酸のアシル残基を表す。)により表される新規なスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体。

2. 一般式(1)において、 R_{101} が $CH_3(CH_2)_nCO-$ (n は12~24の整数。)で表されるアシル残基であり、 R_{102} が水素原子又は $CH_3(CH_2)_{n'}CO-$ (n' は12~24の整数。)で表されるアシル残基であることを特徴とする請求の範囲第1項に記載のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体。

3. 一般式 (1) の R_{102} が水素原子である請求の範囲第2項に記載のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体。

4. 一般式(1)のスルホラムノースとグリセロールとの結合が α 結合である請求の範囲第3項のスルホラムノシルアシルグリセロール誘導体。

5. 請求の範囲第1項ないし第4項のいずれか1項に記載される一般式(1)の化合物およびその薬学的に許容される塩からなる群から選択される少なくとも1種を有効成分として含有する医薬。

- 6 . D N A 合 成 酵 素 阻 害 剤 で あ る 請 求 の 範 囲 第 5 項 の 医
薬。
- 7 . 制 癌 剤 で あ る 請 求 の 範 囲 第 5 項 の 医 薬。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00972

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07H15/04, A61K31/7032, A61P35/00, 43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07H15/04, A61K31/7032, A61P35/00, 43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN)

REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A, P	JP, 11-106395, A2 (TOYO SUISAN KAISHA LTD.), 20 April, 1999 (20.04.99) (Family: none)	1-7
A	KEISUKE OHTA, YOSHIYUKI MIZUSHIMA, NORIKO HIRATA, MASAHARU TAKEMURA, FUMIO SUGAWARA, AKIO MATSUKAGE, SHONEN YOSHIDA, KENGO SAKAGUCHI, "Action of a New Mammalian DNA Polymerase Inhibitor, Sulfoquinovosyldiacylglycerol", Biological & Pharmaceutical Bulletin, February 1999, Vol.22, No.2, p.111-116	1-7
A	KEISUKE OHTA, YOSHIYUKI MIZUSHIMA, NORIKO HIRATA, MASAHARU TAKEMURA, FUMIO SUGAWARA, AKIO MATSUKAGE, SHONEN YOSHIDA, KENGO SAKAGUCHI, "Sulfoquinovosyldiacylglycerol, KM043, a New Potent Inhibitor of Eukaryotic DNA Polymerase and HIV-Reverse Transcriptase Type 1 from a Marine Red Alga, Gigartina tenella", Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 1998, Vol.46, No.4, p.684-686	1-7
A	YOSHIYUKI MIZUSHIMA, ITIRO WATANABE, KEISUKE OHTA, MASAHARU TAKEMURA, HIROEKI SAHARA, NOBUAKI TAKAHASHI, SINSEI GASA, FUMIO SUGAWARA, AKIO MATSUKAGE,	1-7

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 08 March, 2000 (08.03.00)	Date of mailing of the international search report 21.03.00
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/00972

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>SHONEN, YOSHIDA, KENGO SAKAGUCHI, "Studies on Inhibitors of Mammalian DNA Polymerase alpha and beta", Biochemical Pharmacology, 1998, Vol. 55, No. 4, p. 537-541</p> <p>H SAHARA, M ISHIKAWA, N TAKAHASHI, S OHTANI, N SATO, S GASA, T AKINO, K KIKUCHI, "In vivo anti-tumor effect of 3'-sulfonoquinovosyl 1'-monoacylglyceride isolated from sea urchin (Strongylocentrotus intermedius) intestine", British Journal of Cancer, 1997, Vol. 75, No. 3, p. 324-332</p>	1-7

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP00/00972

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07H15/04, A61K31/7032, A61P35/00, 43/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ C07H15/04, A61K31/7032, A61P35/00, 43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN)

REGISTRY (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A, P	JP, 11-106395, A2 (東洋水産株式会社) 20. 4 月. 1999 (20. 04. 99) (ファミリーなし)	1-7
A	KEISUKE OHTA, YOSHIYUKI MIZUSHIMA, NORIKO HIRATA, MASA HARU TAKE MURA, FUMIO SUGAWARA, AKIO MATSUKAGE, SHONEN YOSHIDA, KENGO SAKA GUCHI, "Action of a New Mammalian DNA Polymerase Inhibitor, Su lfoquinovosyldiacylglycerol", Biological & Pharmaceutical Bul letin, February 1999, Vol. 22, No. 2, p. 111-116	1-7
A	KEISUKE OHTA, YOSHIYUKI MIZUSHIMA, NORIKO HIRATA, MASA HARU TAKE MURA, FUMIO SUGAWARA, AKIO MATSUKAGE, SHONEN YOSHIDA, KENGO SAKA GUCHI, "Sulfoquinovosyldiacylglycerol, KM043, a New Potent Inhi	1-7

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

08. 03. 00

国際調査報告の発送日

21.03.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

吉住 和之

4P

9165

電話番号 03-3581-1101 内線 3490

C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	<p>bitor of Eukaryotic DNA Polymerase and HIV-Reverse Transcrip tase Type 1 from a Marine Red Alga, <i>Gigartina tenella</i>", <i>Chemic al & Pharmaceutical Bulletin</i>, 1998, Vol. 46, No. 4, p. 684-686</p> <p>YOSHIYUKI MIZUSHIMA, ITIRO WATANABE, KEISUKE OHTA, MASA HARU TAK EMURA, HIROEKI SAHARA, NOBUAKI TAKAHASHI, SINSEI GASA, FUMIO SUG AWARA, AKIO MATUKAGE, SHONEN, YOSHIDA, KENGO SAKAGUCHI, "Studies on Inhibitors of Mammalian DNA Polymerase alpha and beta", <i>Bi ochemical Pharmacology</i>, 1998, Vol. 55, No. 4, p. 537-541</p>	1-7
A	<p>H SAHARA, M ISHIKAWA, N TAKAHASHI, S OHTANI, N SATO, S GASA, T AKI NO, K KIKUCHI, "In vivo anti-tumor effect of 3'-sulfonoquinovo syl 1'-monoacylglyceride isolated from sea urchin (<i>Strongyloc entrotus intermedius</i>) intestine", <i>British Journal of Cancer</i>, 1 997, Vol. 75, No. 3, p. 324-332</p>	1-7